

· 基础研究 ·

超短波对兔急性肺损伤肺内小动脉血管壁的保护作用

周淑华 蒋小燕 杨朝晖 王倩 黄庆华

【摘要】 目的 通过超短波对兔急性肺损伤肺部的治疗,观察肺内小动脉(Small Artery, SA)血管壁的变化,了解超短波对急性肺损伤肺内 SA 血管壁是否具有保护作用,并初步探讨其作用机制。**方法** 健康大白兔 18 只,随机分为 A、B、C 3 组,每组 6 只。A 组为正常对照组;B 组将大肠杆菌内毒素静脉注射 30 min 后,应用微热量超短波治疗,每天 1 次,共治疗 7 d;C 组将大肠杆菌内毒素静脉注射后不做任何治疗,观察 7 d。各组兔分别在规定时间内静脉注入空气 50 ml 处死,样本用 40 g/L 多聚甲醛固定,NADPH-d 组织化学染色,光镜观察。**结果** A 组 SA 血管内膜光滑,NADPH-d 组织化学染色呈深紫色强阳性反应,内皮细胞及平滑肌细胞分布均匀。B 组血管扩张,管壁 NADPH-d 组织化学染色、内皮细胞及平滑肌细胞分布与 A 组无明显差别。C 组 SA 血管内膜增生,内膜下结缔组织水肿,NADPH-d 组织化学染色呈深紫色强阳性反应,中层平滑肌水肿、增生,血管壁厚薄不均,管腔变窄。图像分析结果显示:C 组一氧化氮合酶(NOS)阳性染色细胞数明显高于 A 组,差异有极显著性意义($P < 0.01$);而经超短波治疗后的 B 组 NOS 阳性染色细胞数与 A 组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。**结论** 超短波能够通过调节 NOS 的活性,明显减轻内毒素性肺损伤肺内 SA 血管壁内膜及平滑肌的损伤、增生,并具有扩张血管的作用。

【关键词】 超短波; 肺血管壁; 内皮细胞; 平滑肌细胞

The protective effect of ultrashort wave on pulmonary arteriole wall in rabbits with acute lung injury ZHOU Shu-hua*, JIANG Xiao-yan, YANG Zhao-hui, WANG Qian, HUANG Qing-hua. * Department of Rehabilitation Medicine, Xiehe Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

【Abstract】 Objective To observe whether the ultrashort wave therapy has protective effects on the arteriole in acute lung injury (ALI) induced by endotoxin, and to study the underlying mechanisms. **Methods** Eighteen rabbits were used and divided into three groups randomly: group A, the rabbits were intravenously injected with 5ml of 0.9% saline and served as the control group. Group B, ALI were induced by intravenous injection of endotoxin (0.7mg/kg body weight) in the rabbits, who were then treated with 30min of ultrashort wave diathermy once daily for one week after the injection. Group C, the rabbits were not given any treatment after the intravenous injection of endotoxin, and observed for one week. All groups of the rabbits were sacrificed by injection of 50ml air at the predetermined time point. The sections of the lung samples were stained by NADPH-d after embedded in 40g/L polymethanal and observed under microscope. **Results** In group A the endothelium of pulmonary vessels were smooth, the vascular walls were deeply stained by NADPH-d. The endothelial cells and smooth muscle cells distributed symmetrically. There were no differences between group B and the control group in staining, distribution of endothelial cells and smooth muscular cells. In group C, the pulmonary vascular endotheliums were proliferative, the connective tissues under endothelium were edematous and were deeply stained by NADPH-d. In the media layer the smooth muscle cells were edematous and proliferative and the layer thickness were not symmetrical. The vascular cavity become narrow. Image analysis showed that the number of cells positive for NOS staining were significantly increased in group C when compared with that in group A ($P < 0.01$). However, there was significant differences between groups B and A in terms of the number of cells positive for NOS staining ($P > 0.05$). **Conclusion** Ultrashort wave can significantly reduce the lesion and proliferation of endothelium induced by endotoxin and regulate the activity of NOS and dilate the pulmonary vessels.

【Key words】 Ultrashort wave; Pulmonary vascular cell; Endothelial cells; Smooth muscle cells

适当剂量的超短波可用于治疗炎症性疾病、调节

急性肺损伤肺内一氧化氮合酶(nitric oxide synthesis, NOS)活性、稳定多形核白细胞溶酶体酶、调节炎症组织内丙二醛的含量等作用,已被大量临床及实验资料证实^[1-3],但超短波对肺损伤肺内小动脉(small artery, SA)血管壁的影响尚少见报道。本实验通过超短波对

基金项目:湖北省卫生厅资助课题(No. 38)

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院康复医学科(周淑华、蒋小燕、杨朝晖、王倩);华中科技大学同济医学院微生物教研室(黄庆华)

内毒素性肺损伤肺部的治疗,观察超短波对损伤肺血管壁的内皮细胞及平滑肌细胞的影响,探讨超短波对肺内小动脉血管壁的保护作用。

材料与方法

一、材料

大肠杆菌内毒素(北京产)、超短波电疗机(上海产)。

二、实验动物分组

健康大白兔 18 只(华中科技大学同济医学院动物中心提供),雌雄不拘,体重 1.8~2.2 kg,随机分为 A、B、C 3 组,每组 6 只。A 组为正常对照组;B 组将内毒素注射 30 min 后进行微热量超短波治疗,10 cm×8 cm 方形电极,间隙 1.5 cm,胸部左、右对置,电流强度为 60 mA,每日 1 次,每次 10 min,共治疗 7 d;C 组将内毒素注射后不做任何治疗,观察 7 d。

三、实验方法

1. 模型制作:A 组模型——自兔耳静脉注入生理盐水 5 ml;B、C 组模型——将大肠杆菌内毒素以 0.7 mg/kg 体重溶于 5 ml 生理盐水,在 2 min 内自兔耳静脉缓慢注入。

2. 取材与组织化学染色:各组大白兔分别在规定时间内自兔耳静脉注入空气 50 ml 处死。开胸取左肺中末端组织块 1 cm×1 cm×1 cm,生理盐水冲洗后放入 40 g/L 多聚甲醛固定 8~12 h,入 200 g/L 蔗糖液中孵育,置 4℃ 冰箱内 8~12 h,于 -20℃ 恒冷切片机内连续切片。NADPH-d 组织化学染色,标本放入含 0.25 mmol/L 硝基四氮氮唑蓝、1 mmol/L 还原型辅酶 II (NADPH)、0.25% Triton X-100-0.1 mol/L Tris-HCL (pH7.6) 缓冲溶液 37℃ 孵育 45 min,再用 0.01 mol/L 的 PBS 冲洗、脱水、透明、封片。

四、光学显微镜观察

目测半定量法观察肺动脉壁各层 NADPH-d 组织化学染色反应,NOS 阳性产物呈紫色,深紫色为强阳性,紫色为阳性,浅紫色为弱阳性,与背景同色为阴性。

五、图像分析

光镜下观察组织化学染色切片(每组取 6~8 张),并将图像投射到图像分析仪荧光屏上,调节监视器上图像,使之与目镜中一致。每片选 2 个目标(即小动脉、小静脉),分析 NOS 阳性染色细胞数。

六、统计学分析

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验进行统计学分析。

结 果

一、肉眼观察

A 组肉眼可见双肺呈粉红色,表面光滑。C 组双

肺有散在点状出血,部分肺组织与胸膜粘连。B 组双肺颜色稍深,无明显肺部出血点和胸膜粘连。

二、光镜观察

A、B、C 3 组肺动脉内膜及 B 组少部分平滑肌均呈深紫色强阳性反应。A 组血管内膜光滑,内皮细胞及平滑肌细胞分布均匀。C 组内膜增生,内膜下结缔组织水肿,中层平滑肌细胞水肿、增生,管壁厚薄不均,管腔变窄。B 组血管腔扩张,内皮细胞及平滑肌细胞分布与 A 组无明显差异(图 1,2,3)。

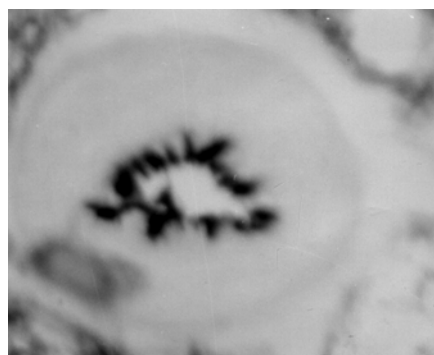


图 1 A 组(正常对照组),血管内膜光滑,呈深紫色强阳性反应,内皮细胞及平滑肌细胞分布均匀(NADPH-d 组织化学染色 ×100)

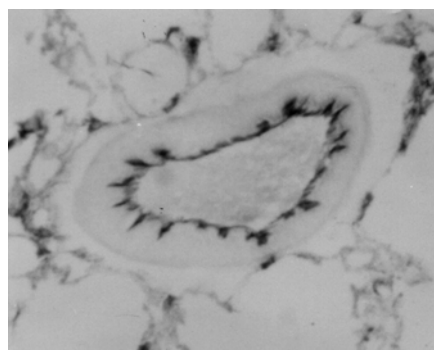


图 2 B 组,内毒素注射后应用超短波治疗 7 d,血管扩张,管壁内皮细胞、平滑肌细胞分布与对照组无明显差异(NADPH-d 组织化学染色 ×100)

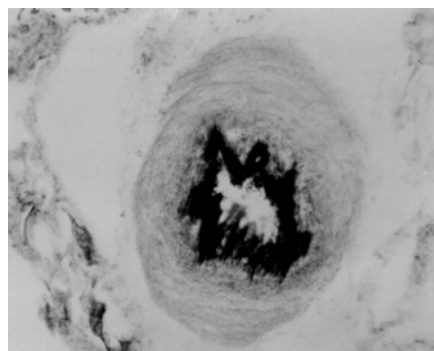


图 3 C 组,内毒素注射后不做任何治疗,7 d 后观察,血管内膜增生,内膜下结缔组织水肿,呈深紫色强阳性反应,中层平滑肌水肿、增生,血管壁厚薄不均,管腔变窄(NADPH-d 组织化学染色 ×100)

三、图像分析

C 组肺组织内小血管壁 NOS 阳性染色细胞数明显增多,与 A 组比较,差异有极显著性意义($P < 0.01$)。B 组与 A 组比较,各指标差异均无显著性意义($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 各组细小血管壁 NOS 阳性染色细胞数测定结果($\bar{x} \pm s$)

分组	细胞数均值(个)	t 值	P 值
A 组	11.40 ± 3.71	-	-
C 组	31.00 ± 5.29*	6.24	<0.01
B 组	10.67 ± 4.51 [#]	0.12	>0.05

注: * 与 A 组比较, $P < 0.01$; [#] 与 A 组比较, $P > 0.05$

讨 论

内毒素可使内皮细胞(endothelial cell, EC)由正常的静止状态转变为激活状态,激活的 EC 可使多种免疫球蛋白表达,产生促进白细胞粘附和具有凝血作用的表面蛋白,并分泌血小板源性生长因子,导致生长因子过度分泌,促使 EC、平滑肌细胞和成纤维细胞增殖,使血管壁增厚,引起肺动脉压力升高。肺动脉高压是内毒素引起的急性肺损伤早期主要表现之一,肺动脉高压可促进肺间质水肿、肺功能障碍,甚至呼吸衰竭,因此防治肺动脉高压是治疗急性肺损伤的重要措施之一。

超短波通过调节急性肺损伤时 NOS 的活性而起保护肺血管的作用。在本实验中,经超短波治疗 7 d 的急性肺损伤兔模型,其肺小动脉内膜光滑,内皮细胞与平滑肌细胞分布均匀,与正常对照组无明显差异,NADPH-d 组织化学染色除内膜呈深紫色强阳性反应、有血管腔变大外,NOS 阳性染色细胞数与 A 组比较,差异均无显著性。而未经超短波治疗的 C 组,血管内膜及内皮下少部分平滑肌细胞,NADPH-d 组织化学染色也呈深紫色强阳性反应,有肺小动脉血管内膜增生,内膜下结缔组织水肿,平滑肌细胞增生、水肿、分布不均,管腔变窄。NOS 阳性染色细胞数明显增多,与 A 组比较,差异有极显著性意义。从以上结果可以看出,超短波有明显保护血管壁和扩张血管的作用。近年来,大量动物实验和人体研究证实^[4-9],NO 能够扩张血管、降低血小板聚集和白细胞粘附性,并能够调节血管平滑肌细胞增殖、凋亡、迁移和血管基质的形成,通

过鸟苷酸环化酶使内皮细胞合成内皮素减少,从而抑制成纤维细胞的 DNA 合成,减慢成纤维细胞自 G₁ 期向 S 期转变,抑制血管结构重塑和管壁增厚。另外 NO 能够扩张血管^[10],并发现 NO 可与平滑肌细胞内可溶性鸟苷酸环化酶的亚铁血红素部分结合,使其三维结构象发生改变,激活可溶性鸟苷酸环化酶,使平滑肌细胞内环磷酸鸟苷产生增多而使血管扩张。故超短波可能是通过调节 NOS 活性使 NO 合成处于动态平衡状态,并通过 NO 浓度的变化影响细胞内鸟苷酸环化酶浓度,影响 EC 合成内皮素,而使血管扩张,并抑制炎症因子的大量产生,抑制炎症对肺血管的损伤,但这一效果的分子机制还需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 周淑华, 蒋小燕, 杨朝晖, 等. 超短波对兔内毒素急性肺损伤肺内 NOS 阳性染色细胞数量的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 1:24-26.
- 2 李晶, 佟芳, 陈祥银, 等. 超短波对多形核白细胞释放 β -葡萄糖醛酸酶的影响. 中华理疗杂志, 1998, 2:81-83.
- 3 李晶, 佟芳, 陈祥银, 等. 超短波抗炎作用的机理探讨. 中华理疗杂志, 1990, 4:201-202.
- 4 Pollman MJ, Yamada T, Horiuchi M, et al. Vasoactive substances vascular smooth muscle cell apoptosis. Circ Res, 1996, 79: 748-756.
- 5 Sarkar R, Meieberg EG, Stanley JC, et al. Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells. Circ Res, 1996, 78: 225-230.
- 6 王培勇, 刘键, 罗德成, 等. 一氧化氮在缺氧肺动脉平滑肌细胞增殖中的作用. 中国药理学通报, 1997, 13:476-477.
- 7 Yu SM, Hung LM, Lin CC, et al. cGMP-Elevating agents suppress proliferation of vascular smooth muscle cells by inhibiting the activation of epidermal growth factor signaling pathway. Circulation, 1997, 95: 1269-1277.
- 8 Sarkar R, Gordon D, Slandey JC, et al. Cell cycle effects of nitric oxide on vascular smooth muscle cell. Am J Physiol, 1997, 272: H1810-H1818.
- 9 Kolpakov V, Gordon D, Kulik TJ, et al. Nitric oxide-generating compounds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cell. Circ Res, 1995, 76: 305-309.
- 10 Barmes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. Thorax, 1993, 48: 1034-1043.

(收稿日期:2003-05-07)

(本文编辑:郭正成)

本刊办刊方向:

立足现实 关注前沿 贴近读者 追求卓越